

ミトコンドリア病の診断の現状

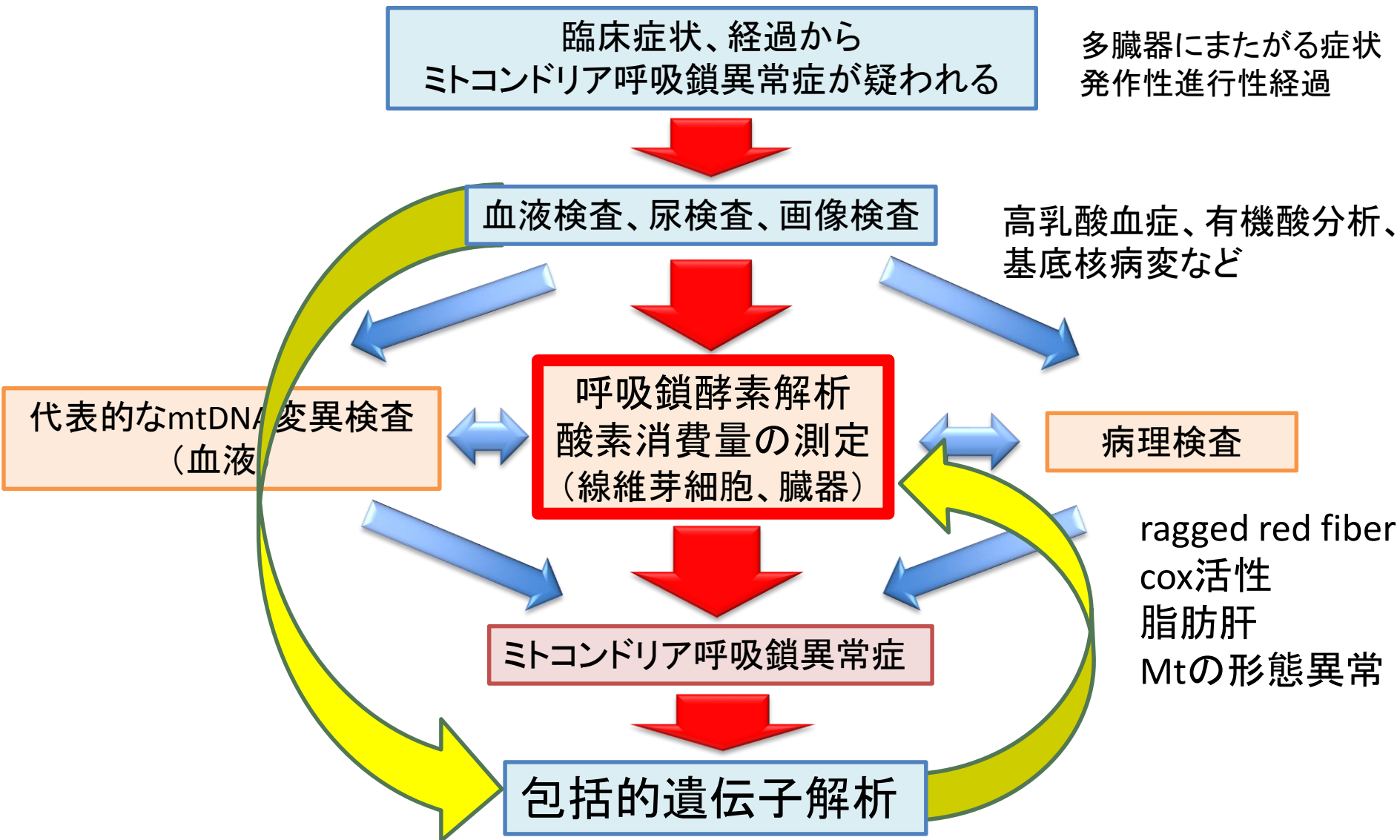
千葉県こども病院代謝科
志村優



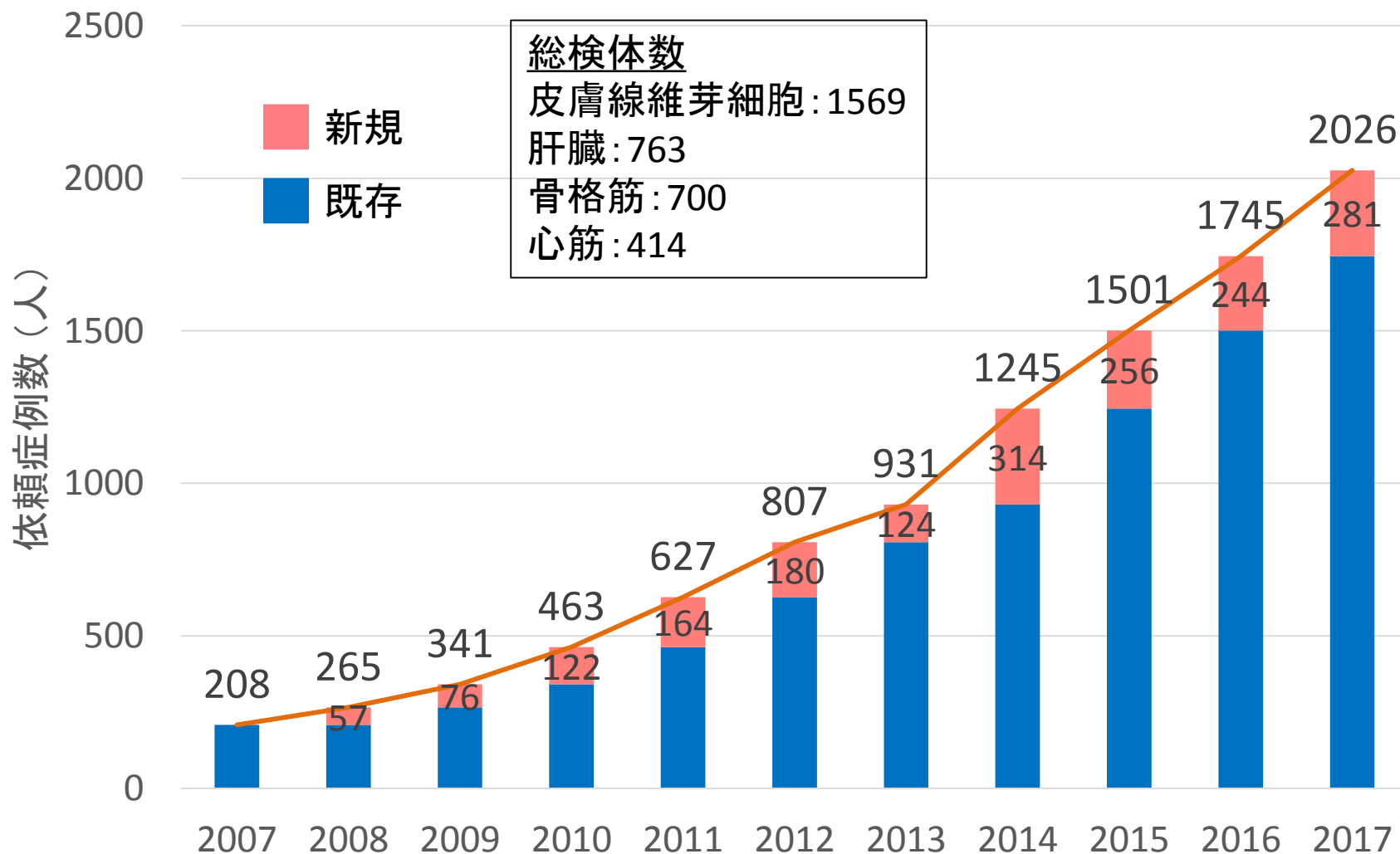
千葉県こども病院
CHIBA CHILDREN'S HOSPITAL

第3回ミトコンドリア病研究・患者公開フォーラム, 2018年2月24日, 東京

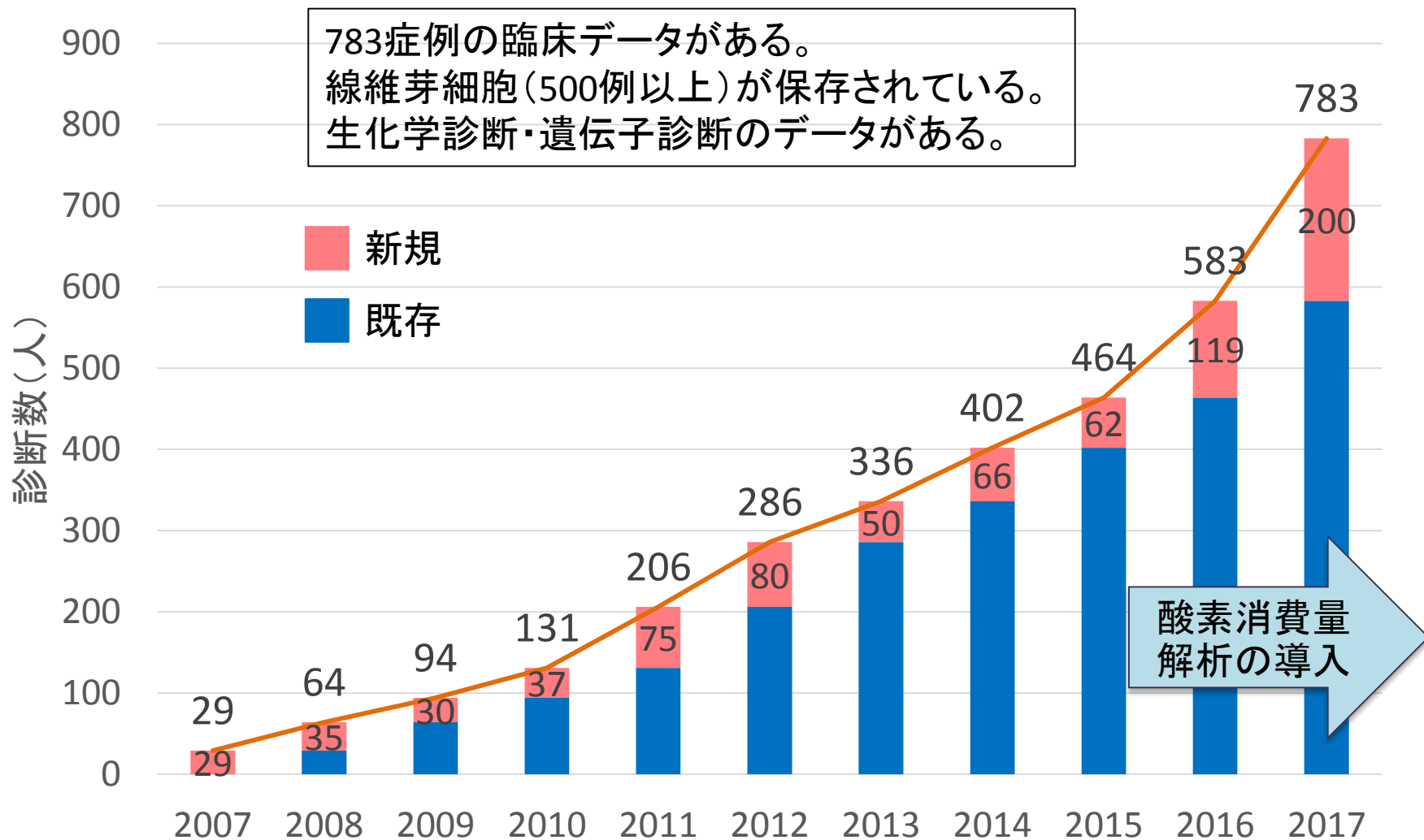
ミトコンドリア呼吸鎖異常症の診断フローチャート



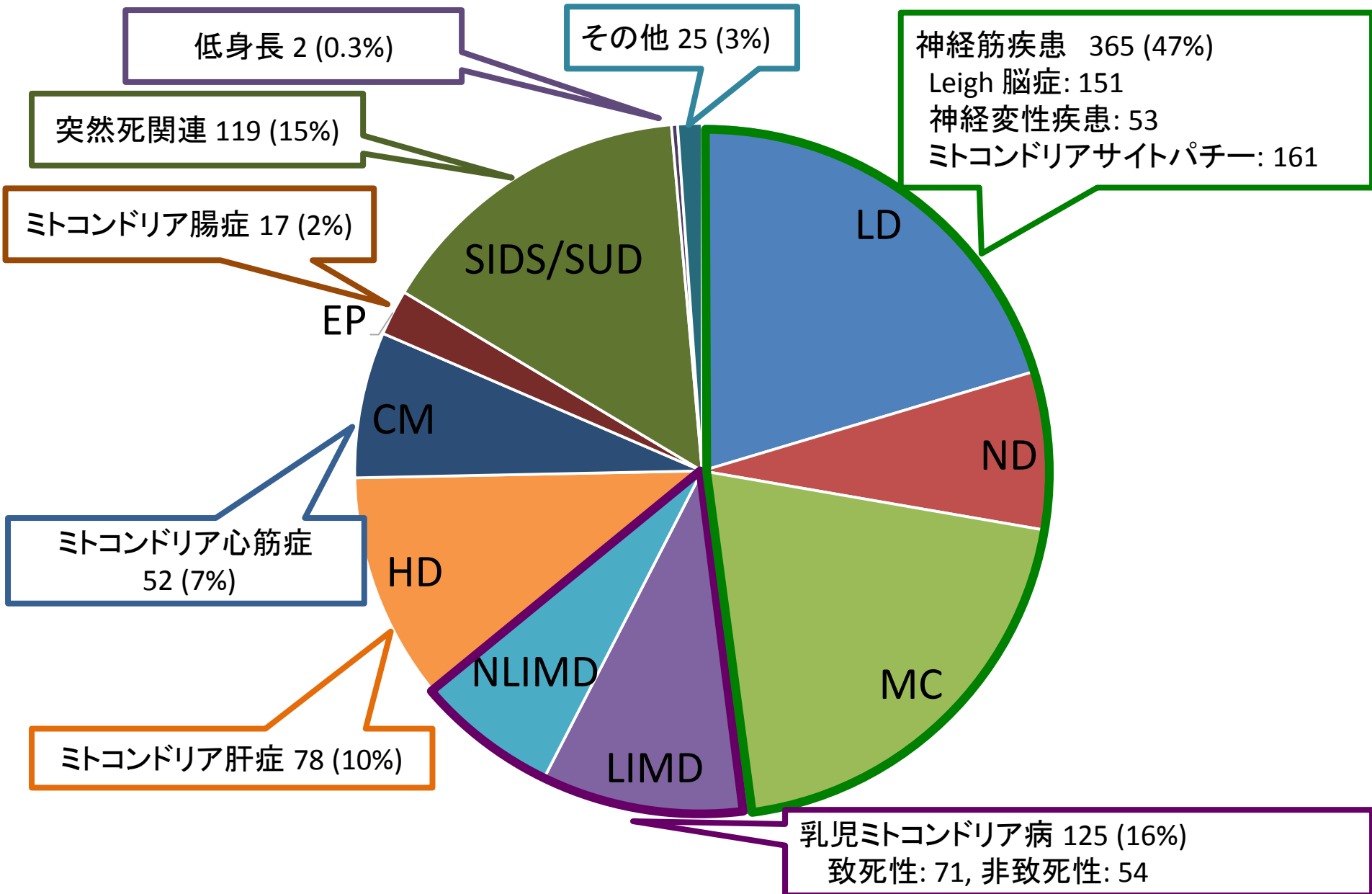
検査依頼症例数の推移



生化学的診断数の推移



臨床診断の内訳 (n=783)

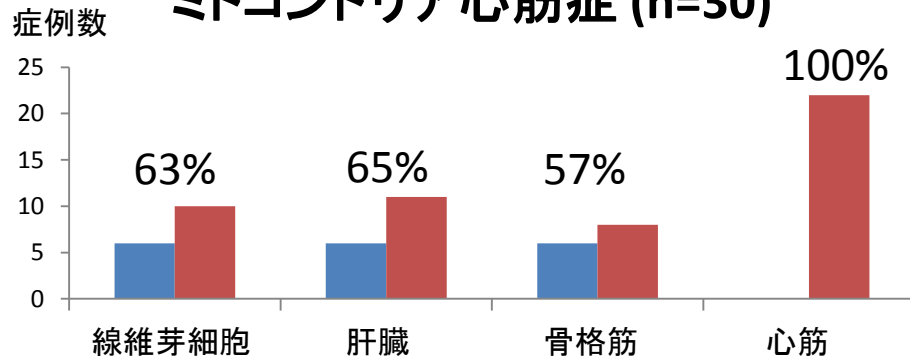


臨床的特徴

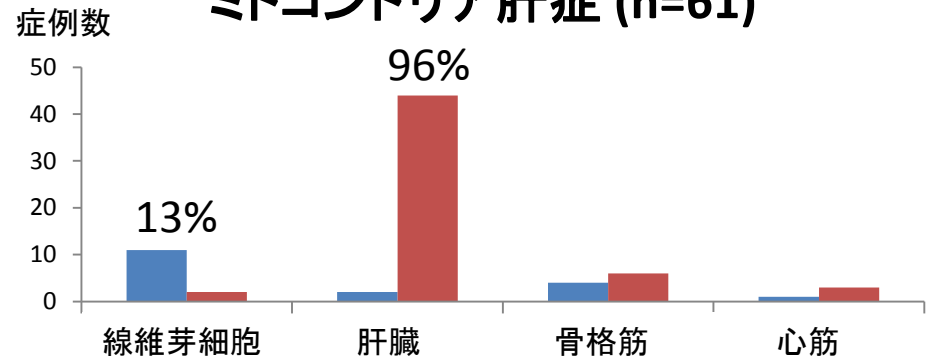
- 子宮内発育遅延: 22%
- 発症年齢
乳児期発症(1歳未満) 75 %
新生児期発症(1ヶ月未満) 40%
- 高乳酸血症: 85%
15%で高乳酸血症を認めない
- 小児期発症例の75%以上が核遺伝子の異常が原因

臨床診断、検体毎の酵素活性の比較 (組織特異性)

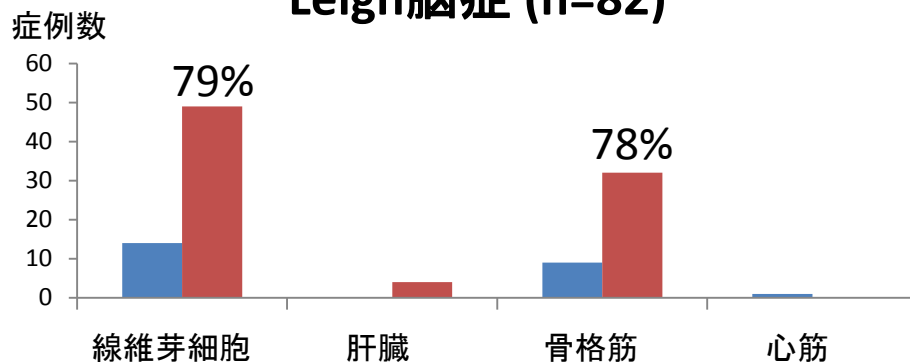
ミトコンドリア心筋症 (n=30)



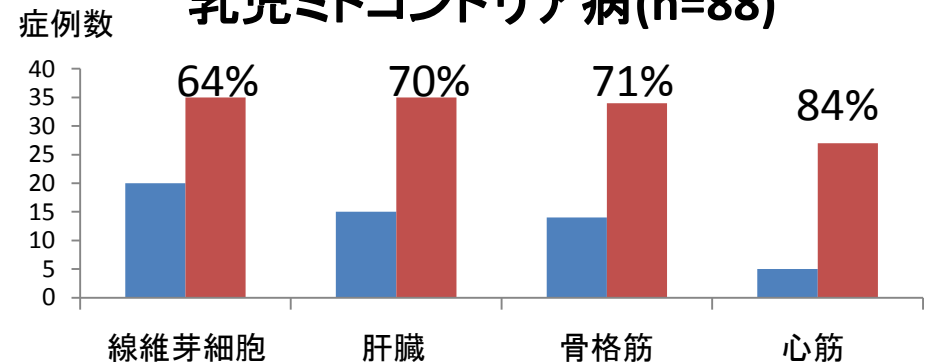
ミトコンドリア肝症 (n=61)



Leigh脳症 (n=82)



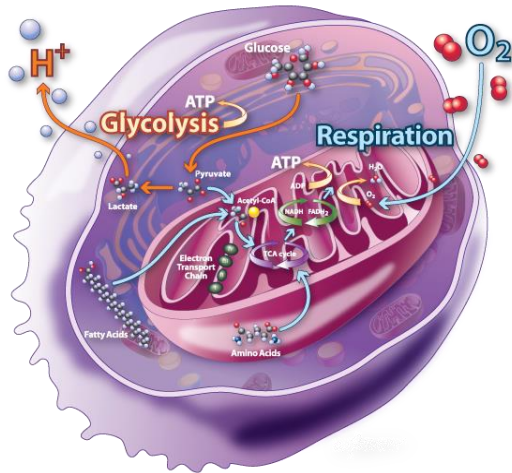
乳児ミトコンドリア病 (n=88)



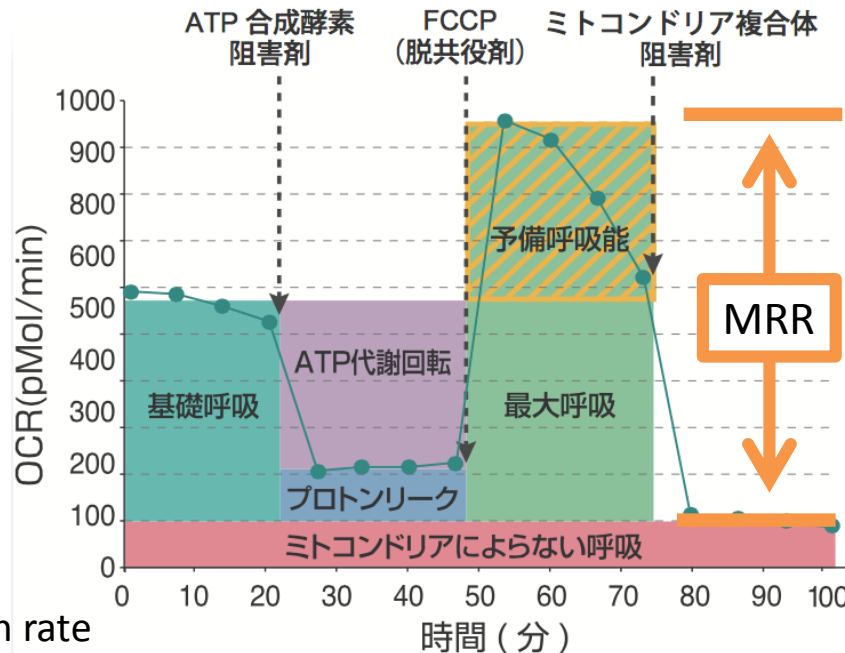
■ 酵素活性低下 ■ 正常

臨床的にミトコンドリア病と矛盾しないが、酵素活性低下を証明できない症例がある。

細胞外フラックスアナライザー (XFe96)



生きた細胞を用いて、ミトコンドリア
酸素消費量と解糖系を同時評価



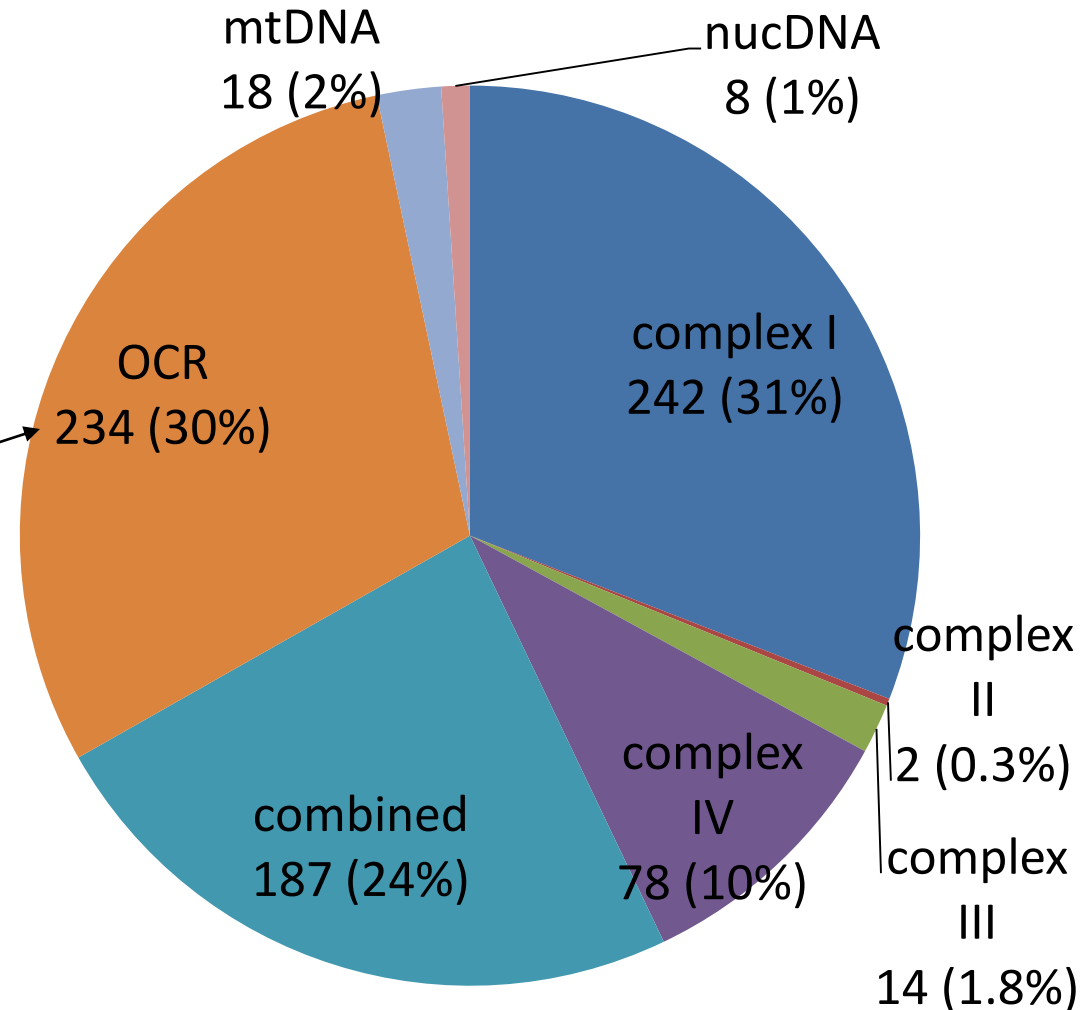
MRR: maximum respiration rate



生化学的診断の内訳 (n=783)

酵素活性が正常で
OCR低下＋遺伝子で診断された
ミトコンドリア病

<i>ATAD3</i>	<i>NDUFB11</i>
<i>COQ4</i>	<i>SLC19A3</i>
<i>ECHS1</i>	<i>TAZ</i>
<i>NARS2</i>	



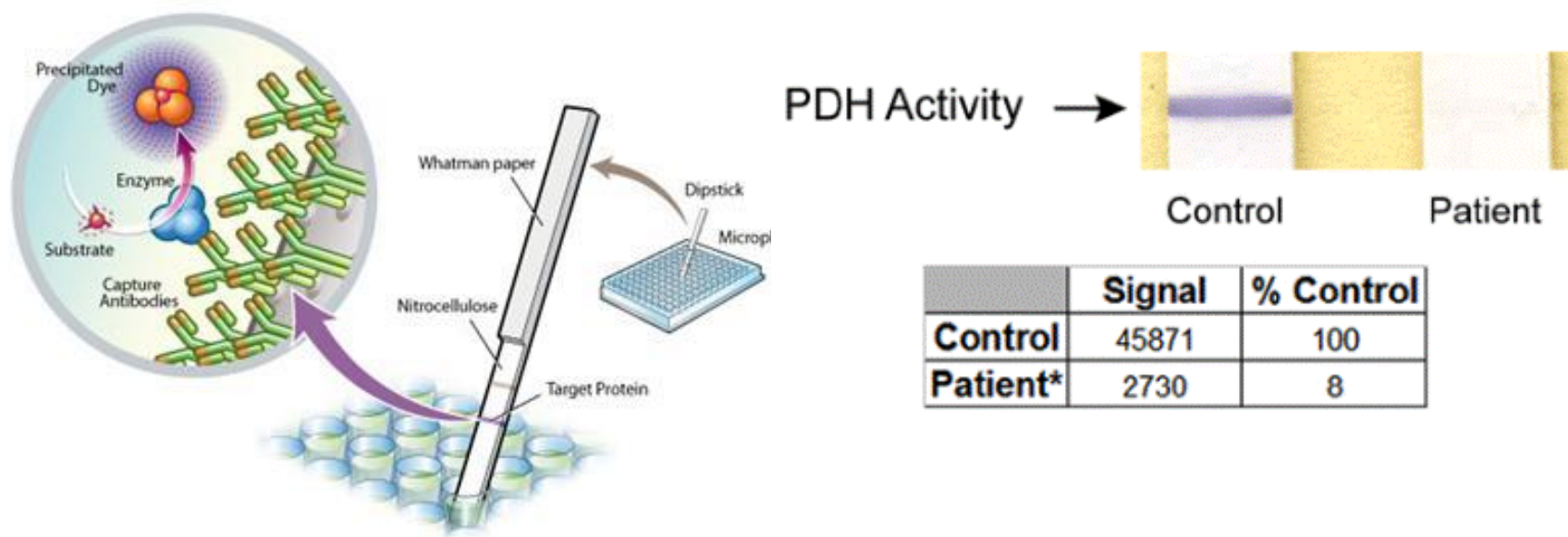
ミトコンドリア病における尿中有機酸分析

- メチルマロン酸尿症
SUCLG1遺伝子異常、SUCLA2遺伝子異常
- 3-メチルグルタコン酸尿症
Barth症候群（X連鎖、心筋症、好中球減少など）
MEGDEL症候群（難聴、Leigh脳症など）
- 3-メチルグルタコン酸、3-メチルグルタル酸、3-ケトグルタル酸、
2-エチル-3-ヒドロキシプロピオン酸などの排泄
mtDNA単一欠失
ex. Pearson症候群（鉄芽球性貧血、臍外分泌不全など）
- 2,3-ジヒドロキシ-2-メチル酪酸尿症
ECHS1欠損症（クロトナーゼ欠損症；Leigh脳症）
- 3-ヒドロキシイソ吉草酸、3-ヒドロキシプロピオン酸、3-メチルクロト
ニルグリシン、メチルクエン酸、2-メチル-3-ヒドロキシ酪酸の排泄
(マルチプルカルボキシラーゼ欠損症様)
MT-ATP6の異常（ex. 8993T>G）

その他全般的に高乳酸尿症、TCA回路の産物の増加など

ピルビン酸脱水素酵素活性測定

Dip Stick assay kit



- 現在、本邦におけるピルビン酸脱水素酵素複合体欠損症の診断は、遺伝子診断が中心となっている。
- Dip Stick assay kitを用いた迅速な生化学的診断が出来るよう、準備を進めています。

皮膚生検からの流れ(例)



皮膚生検
検体到着



酸素消費量
解析



遺伝子
解析

遺伝子診断
結果報告

所要期間

3ヶ月

3～6ヶ月

6～12ヶ月

12ヶ月～

細胞培養



保存(-80度)

酵素活性
測定

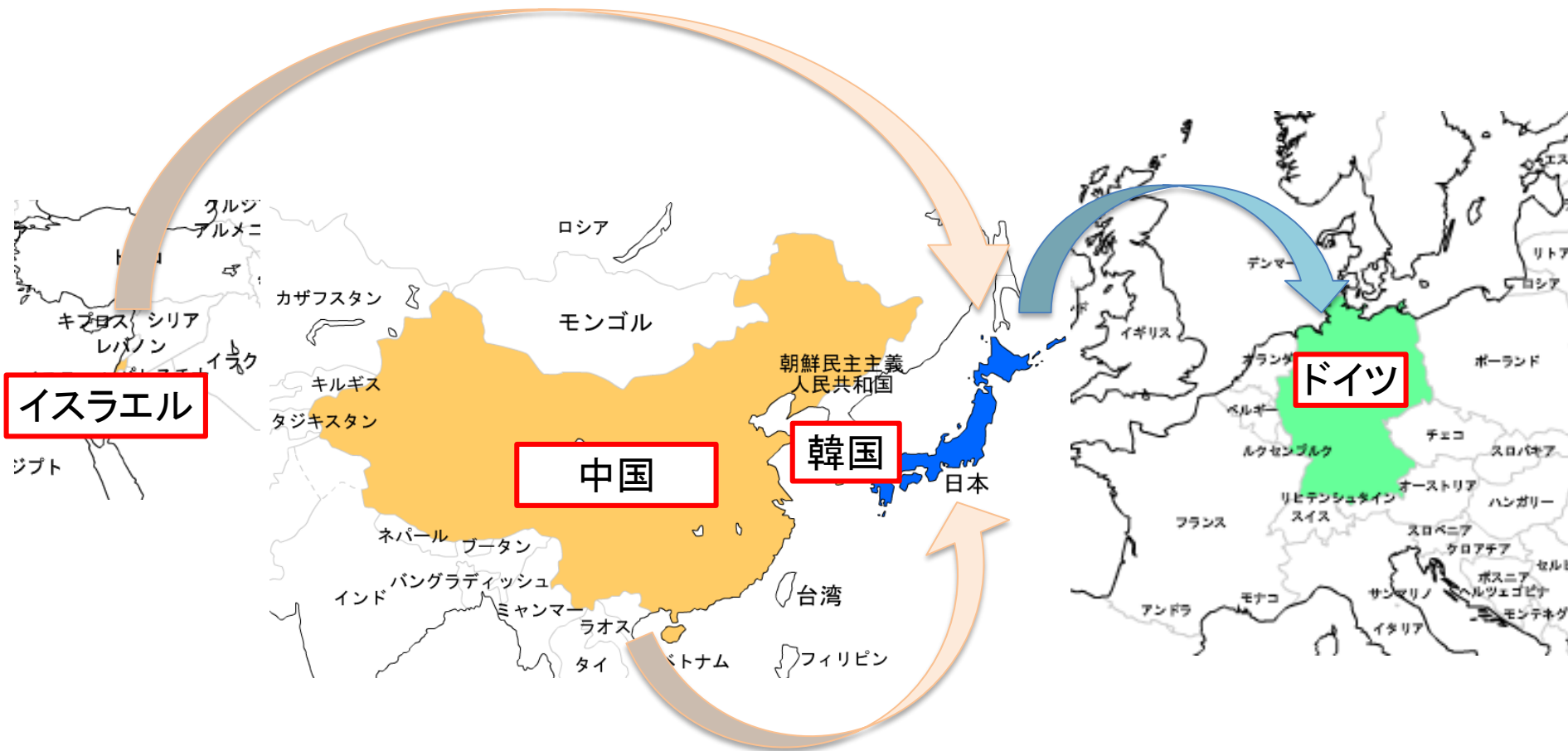
生化学的確定診断
主治医へレポート

検証実験



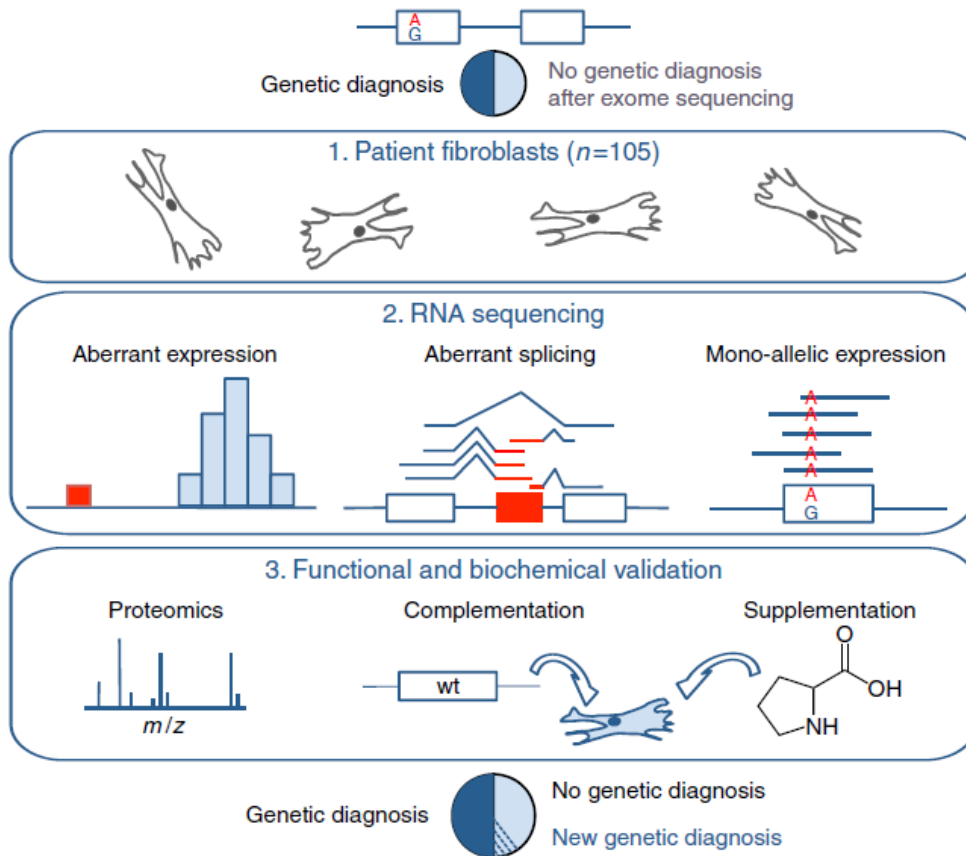
レスキュー実験
サイブリッド実験
モデル生物による検証
国際共同研究

ミトコンドリア病診療における国際連携



中国、韓国、イスラエルなどのアジア各国より検体を受け入れ、生化学的診断を行っています。また、ドイツを中心としたヨーロッパ各国とも国際連携を図り、より精度の高いミトコンドリア病の診断を目指しています。

RNAシーケンス+プロテオーム解析



遺伝子診断パネル、全エクソーム解析で原因遺伝子が同定されなかった症例に対しては、ドイツのグループと共に保存されている皮膚由来線維芽細胞を用いて、RNAシーケンス+プロテオーム解析を行い、原因遺伝子の解明を進めている。

なぜ遺伝子診断？

- ミトコンドリア蛋白に関連する核遺伝子は1500以上あり、約300の遺伝子においてミトコンドリア病と関連することが現在までに報告されている。
- 表現型（臨床病型）が同じであったとしても、原因遺伝子ごとに病態、臨床経過が異なる。
- 原因遺伝子が分かることで病態が解明され、特異的治療や創薬研究へとつながる。

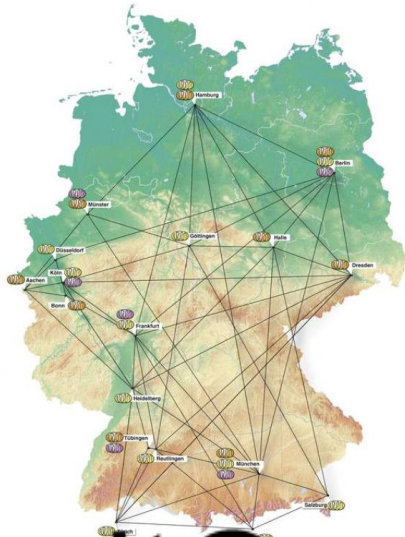
海外におけるミトコンドリア病の原因遺伝子に合わせた特異的治療の取り組み

疾患名	原因遺伝子	治療	治療効果
Brown-Vialetto-Van Laere 症候群/ Fazio-Londe症候群(難聴など)	SLC52A2, SLC52A3, (SLC52A1)a	リボフラビン (経口: 10–50 mg/kg/day)	良好
ビオチン反応性基底核症 (Leigh)	SLC19A3	チアミン (経口: 10–20 mg/kg/day), ビオチン (経口: 10–15 mg/kg/day)	良好
ビオチニダーゼ欠損症 (脳筋症)	BTBD	ビオチン (経口: 5–10 mg/kg/day)	良好
ホロカルボキシラーゼ合成酵素欠損症 (新生児Mito)	HLCS	ビオチン (経口: 10–20 mg/kg/day)	様々だが概ね良好
チアミンピロホスホキナーゼ欠損症 (脳症)	TPK1	チアミン (経口: 20 mg/kg/day)	様々 (これまで10名未満に投与)
ACAD9欠損症 (脳筋症)	ACAD9	リボフラビン (経口: 10–20 mg/kg/day)	様々
マルチプルアシルCoA脱水素酵素欠損症 (乳児Mito)	ETFA, ETFB, ETFDH, SLC25A32, FLAD1	リボフラビン (経口: 10 mg/kg/day)	良好
チアミン反応性PDHC欠損症 (Leigh)	PDHA1	リボフラビン (経口: 30–40 mg/kg/day)	様々
コエンザイムQ10欠損症 (腎症、脳筋症)	PDSS1, PDSS2, COQ2, COQ4, COQ6, COQ7, ADCK3, ADCK4, COQ9	コエンザイムQ10 (経口: 10–30 mg/kg/day)	原因遺伝子による
チトクロムc酸化酵素欠損症 (Leigh 他)	SCO2, COA6	ヒスチジン銅 (投与量不明; 500 mgの皮下注射が提案されている)	不明, SCO2異常症1名のみに投与
モリブデン補酵素欠損症 (新生児Mito)	MOCS1, MOCS2, GPHN	環状ピラノプテリンモノホスファート (静脈注射: 80–320 mg/kg/day)	タイプAのモリブデン補酵素欠損症に対して良好
3-ヒドロキシイソ酪酸-CoA加水分解酵素欠損症 (Leigh)	HIBCH	バリン制限食	不明, 数名にのみ投与
エノイルCoAヒドラターゼ欠損症 (Leigh)	ECHS1	バリン制限食	不明, 数名にのみ投与
チオレドキシン2欠損症 (脳症)	TXN2	抗酸化療法(例: イデベノン 20 mg/kg/day)	明らかに良好(患者は1名のみ)
エチルマロン酸脳症 (新生児Mito)	ETHE1	メトニダゾール, N-アセチル-システイン(グルタチオン前駆体), 肝臓移植	様々

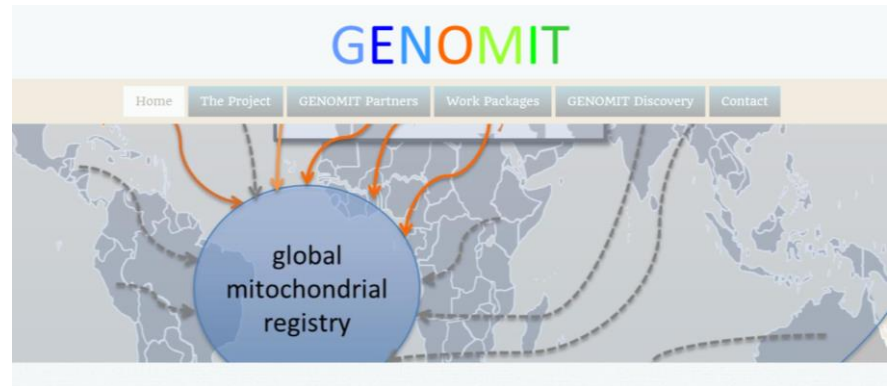
赤字は我々の遺伝子解析でも見つかっている遺伝子異常

DistelmaierらBrain 2017の論文より引用

海外における患者レジストリシステム



mitonet



GENOMIT

- ドイツではmitonetと呼ばれる国内のネットワークを通して患者レジストリが進められ、**約1400名**の登録が済んでいる。登録内容は臨床データだけでなく、血液や尿、DNAなどもバイオバンクで保存している。
- 国際ミトコンドリア病レジストリ(GENOMIT)では**約6000名**が登録され、自然歴の詳細な検討や病態解明、創薬研究などが実施されている。

J-MO Bank

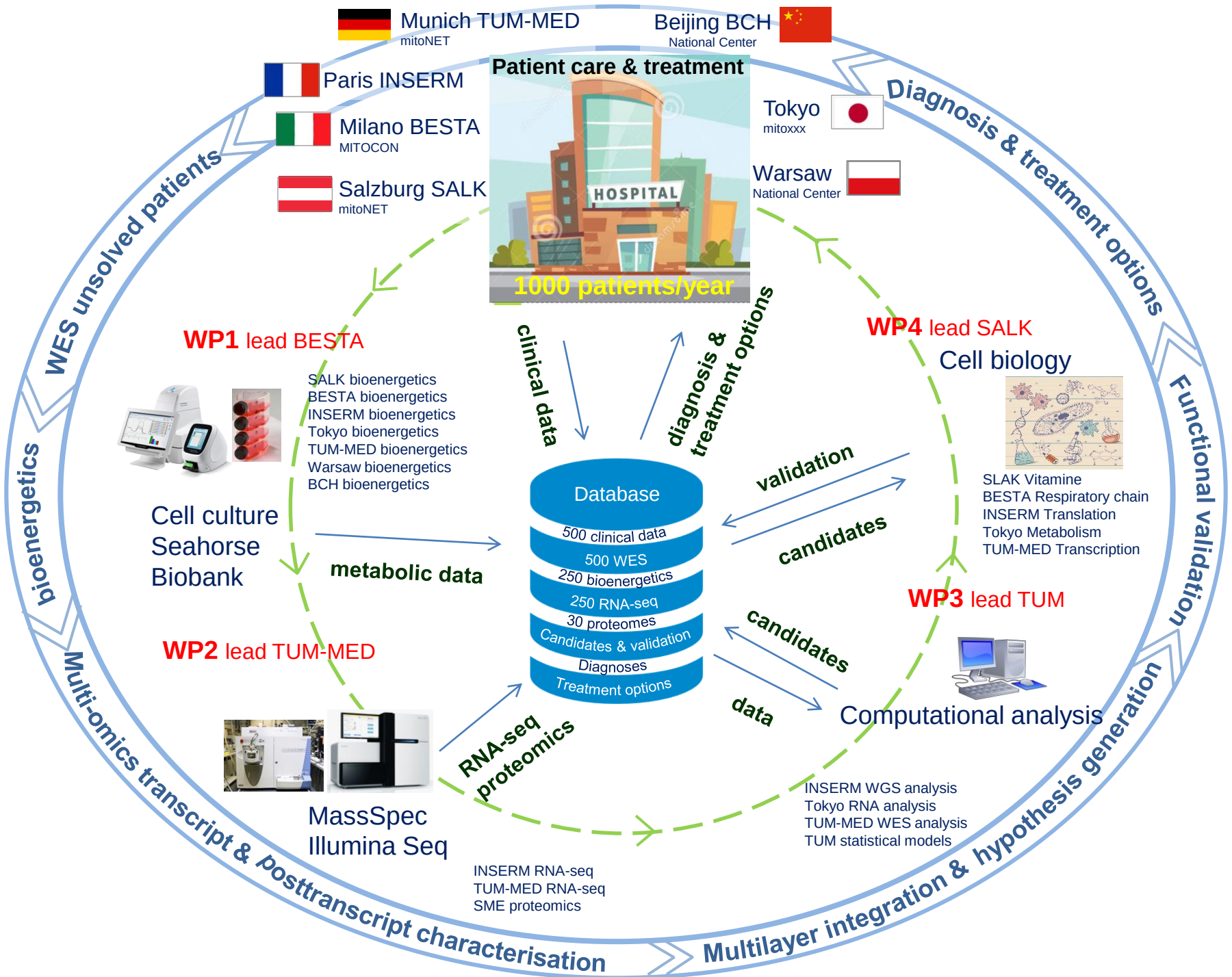
新生児・小児ミトコンドリア病臨床情報バンク

Japan Mitochondrial disease research Organization data Bank



<<http://mo-bank.com/index.html>>

- 本邦においてもレジストリが進められており、Leigh脳症を中心に31名の患者さんが登録済み。
- レジストリにより得られる治療を含む最新情報や、国際的に行われる創薬研究等を国内の患者さんへも紹介、導入するために、国際レジストリ参加への準備中。



希少難病の解明には国際連携が不可欠である

- Toward an Alliance for Genomics and Health in the Asia-Pacific



Euro. (Germany, Austria)



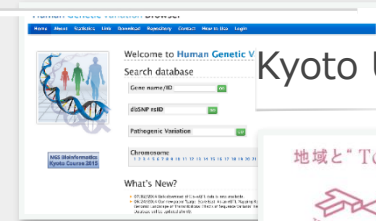
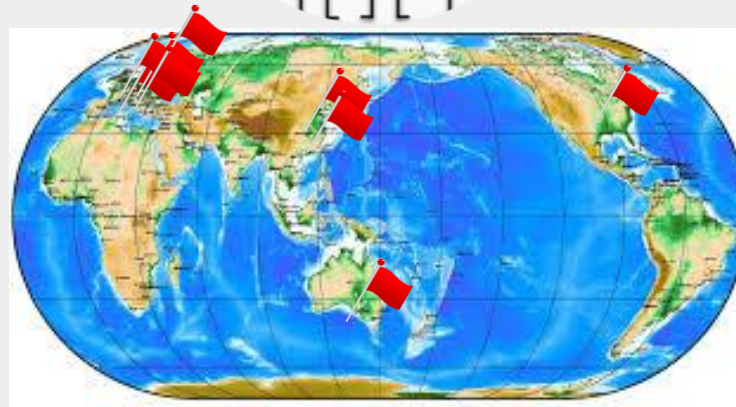
Euro. (Italy)



Euro. (Belgium)



Euro. (Sweden)

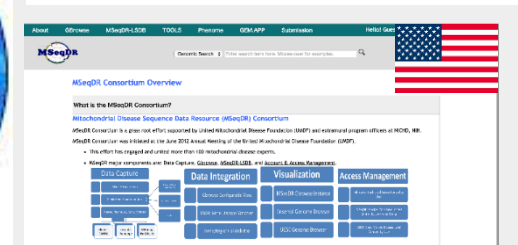


Kyoto University



Tohoku Medical Megabank

Tokyo Metropolitan University
University of Tokyo
Osaka University



USA (CHOP)

